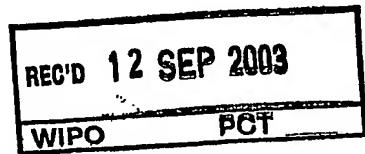


10/531 176  
PCT/JP 03/09428 #2  
Rec'd PCT/PFO 11 APR 2005  
25.07.03

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE



別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて  
いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed  
with this Office.

出願年月日  
Date of Application: 2003年 1月 17日

出願番号  
Application Number: 特願 2003-009365  
[ST. 10/C]: [JP 2003-009365]

出願人  
Applicant(s): カネボウ株式会社

CERTIFIED COPY OF  
PRIORITY DOCUMENT

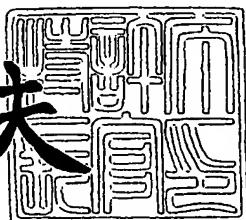
BEST AVAILABLE COPY

PRIORITY  
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 8月 29日

今井康夫



特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

【書類名】 特許願  
【整理番号】 P2003-0002  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【国際特許分類】 A61K 7/00  
【発明者】  
【住所又は居所】 神奈川県小田原市寿町5丁目3番28号 カネボウ株式  
会社 基礎科学研究所内  
【氏名】 福永 恭子  
【発明者】  
【住所又は居所】 神奈川県小田原市寿町5丁目3番28号 カネボウ株式  
会社 基礎科学研究所内  
【氏名】 佐用 哲也  
【発明者】  
【住所又は居所】 神奈川県小田原市寿町5丁目3番28号 カネボウ株式  
会社 基礎科学研究所内  
【氏名】 酒井 進吾  
【発明者】  
【住所又は居所】 神奈川県小田原市寿町5丁目3番28号 カネボウ株式  
会社 基礎科学研究所内  
【氏名】 井上 紳太郎  
【特許出願人】  
【識別番号】 000000952  
【氏名又は名称】 カネボウ株式会社  
【代表者】 帆足 隆  
【電話番号】 03-5446-3575  
【先の出願に基づく優先権主張】  
【出願番号】 特願2002-295733  
【出願日】 平成14年10月 9日

## 【手数料の表示】

【予納台帳番号】 010205

【納付金額】 21,000円

## 【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【ブルーフの要否】 要

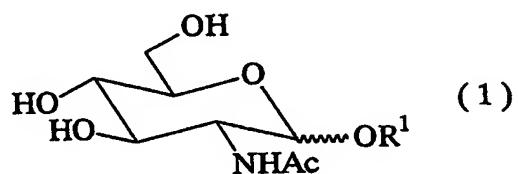
【書類名】 明細書

【発明の名称】 N-アセチルグルコサミン誘導体及び用途

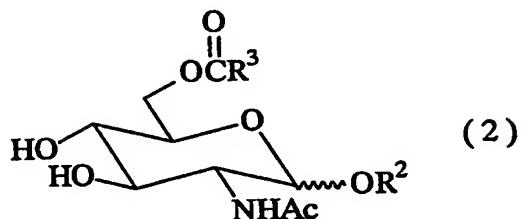
【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記一般式(1)又は(2)で示されるN-アセチルグルコサミン誘導体。

【化1】



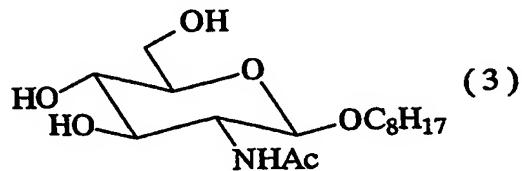
【化2】



(但し、R<sup>1</sup>は炭素数2～16のアルキル基であり、R<sup>2</sup>はHまたは炭素数2～16のアルキル基であり、R<sup>3</sup>は炭素数1～15のアルキル基である。また、どちらも1位の立体構造は、 $\alpha$ あるいは $\beta$ のどちらか一方であるか混合物である。)

【請求項2】 下記構造式(3)で表されるN-アセチルグルコサミン誘導体。

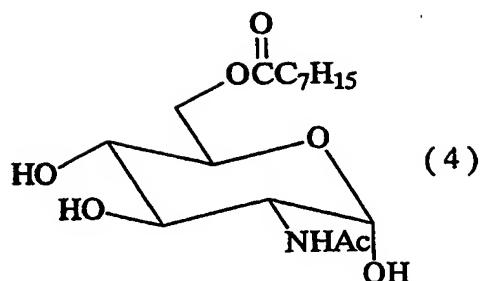
【化3】



【請求項3】 下記構造式(4)で表されるN-アセチルグルコサミン誘導

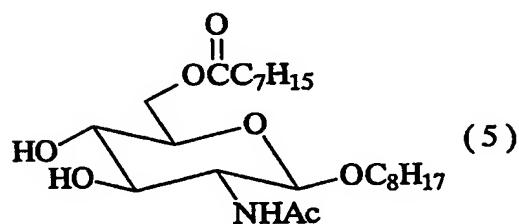
体。

【化4】



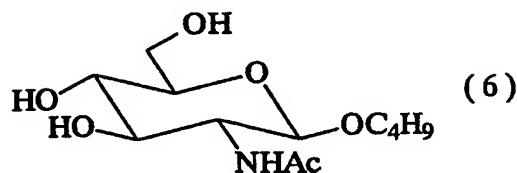
【請求項4】 下記構造式(5)で表されるN-アセチルグルコサミン誘導体。

【化5】



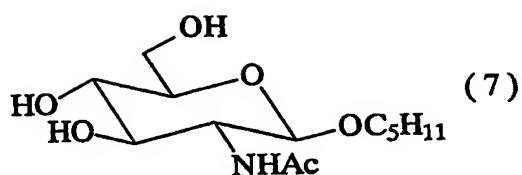
【請求項5】 下記構造式(6)で表されるN-アセチルグルコサミン誘導体。

【化6】



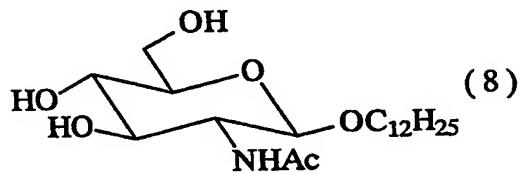
【請求項6】 下記構造式(7)で表されるN-アセチルグルコサミン誘導体。

【化7】



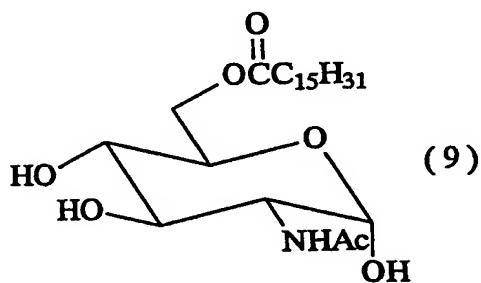
【請求項7】 下記構造式(8)で表されるN-アセチルグルコサミン誘導体。

【化8】



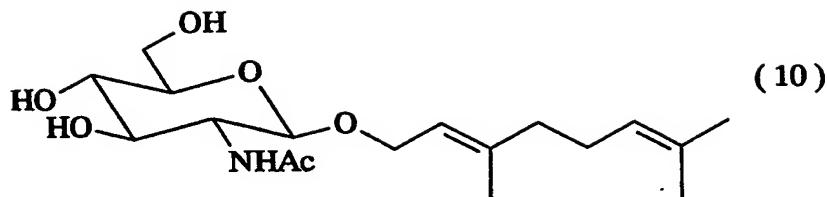
【請求項8】 下記構造式(9)で表されるN-アセチルグルコサミン誘導体。

【化9】



【請求項9】 下記構造式(10)で表されるN-アセチルグルコサミン誘導体。

## 【化10】



**【請求項10】** 請求項1記載のN-アセチルグルコサミン誘導体を有効成分とするヒアルロン酸産生促進剤。

**【請求項11】** 請求項1記載のN-アセチルグルコサミン誘導体を含有することを特徴とする皮膚外用剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## 【発明の属する技術分野】

本発明は、新規N-アセチルグルコサミン誘導体、皮膚外用剤及びヒアルロン酸産生促進剤に関するものである。本発明により皮膚のハリや潤いを維持するとのできる皮膚外用剤が提供される。

## 【0002】

## 【従来の技術】

ヒアルロン酸は細胞の保持、皮膚の潤滑性と柔軟性の保持、機械的障害などの外力に対する抵抗力、および細菌感染の防止など多くの機能を有していることが知られている（非特許文献1参照）。

## 【0003】

一方、老化により表皮細胞間のヒアルロン酸染色強度が低下し（非特許文献2参照）、また紫外線照射によるsolar elastosis部のヒアルロン酸は殆ど検出されないことが報告されており（非特許文献3参照）、その結果として皮膚の乾燥、ハリ、弾力性の低下、ひいてはシワの増加を引き起こすと考えられている。このような状態を改善すべく、ヒアルロン酸を配合した化粧料を塗布することにより皮膚表面の保湿性を保つ方法がとられてきたが、高分子であるヒアルロン酸は皮膚を透過しにくいことから根本的改善は期待できない。したが

って細胞自身が元来もっているヒアルロン酸合成能を高めることにより皮膚機能を根本的に改善する物質の開発が期待されている。

#### 【0004】

表皮におけるヒアルロン酸産生促進物質としては、レチノイン酸が知られており、これは元来表皮に存在し、表皮細胞の増殖や分化に関与する物質である。しかし、レチノイン酸は皮膚刺激性を有している点から、これを回避できるようなヒアルロン酸産生促進物質を見出すことが望まれている。

#### 【0005】

一方、ヒアルロン酸の構成糖であるN-アセチルグルコサミンが5mmol/Lの濃度において、細胞増殖とは無関係に培養表皮細胞のヒアルロン酸の産生を1.5倍程度促進することが報告された（非特許文献4参照）。しかしながら、N-アセチルグルコサミンがヒアルロン酸産生促進効果を示すには高濃度であることが必要であり、より広く化粧品や医薬品等の分野で応用していくためには、低濃度でも十分効果を示す素材を見出すことが望まれている。

#### 【0006】

##### 【非特許文献1】

「BIO INDUSTRY」、株式会社シーエムシー、1991年5月1日発行、第8巻、第5号、66(346)-68(346)頁

##### 【非特許文献2】

Ludger J.M. Meyer and Robert Stern、「Age-Dependent Changes of Hyaluronan in Human Skin」、「The Journal Of Investigative Dermatology」、The Society for Investigative Dermatology, INC.、1994年4月、Vol.102、No.4、385-389頁

##### 【非特許文献3】

辻卓夫、「皮膚の生理的老化：光老化との差異」、「臨床皮膚科」、医学書院、1997年4月15日発行、増刊号第51巻、第5号、53-57頁

##### 【非特許文献4】

「ファインケミカル」、株式会社シーエムシー、2001年12月15日発行、第30巻、第22号、5-11頁

## 【0007】

## 【発明が解決しようとする課題】

従って本発明の目的とするところは、ヒアルロン酸産生を促進させることによって皮膚のハリや潤いを維持しシワの改善が期待される、N-アセチルグルコサミンよりも効果の高いヒアルロン酸産生促進剤及び皮膚外用剤を提供するにある。

## 【0008】

## 【課題を解決するための手段】

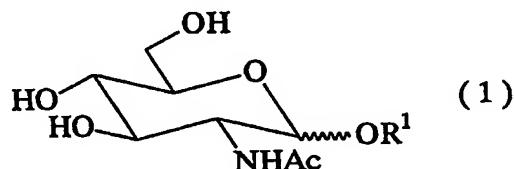
そこで本発明者等は、上記の事情に鑑み、従来の問題を解決する方法を鋭意研究した結果、後記特定の化合物によって表皮及び真皮中のヒアルロン酸産生量を極めて容易、かつ強く促進させることを見出し、本発明を完成するに至った。

## 【0009】

すなわち、本発明は、下記一般式（1）又は（2）で示されるN-アセチルグルコサミン誘導体、該N-アセチルグルコサミン誘導体を含有することを特徴とする皮膚外用剤、該N-アセチルグルコサミン誘導体を有効成分とするヒアルロン酸産生促進剤にある。

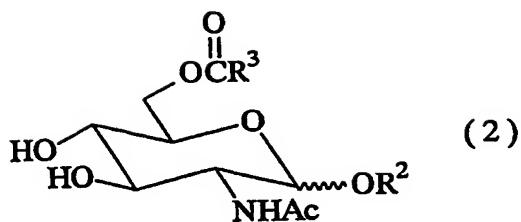
## 【0010】

## 【化11】



## 【0011】

## 【化12】



## 【0012】

(但し、R<sup>1</sup>は炭素数2～16のアルキル基であり、R<sup>2</sup>はHまたは炭素数2～16のアルキル基であり、R<sup>3</sup>は炭素数1～15のアルキル基である。また、どちらも1位の立体構造は、 $\alpha$ あるいは $\beta$ のどちらか一方であるか混合物である。)

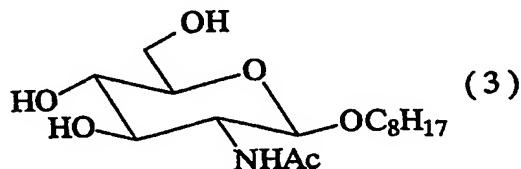
## 【0013】

## 【発明の実施の形態】

本発明で用いられるN-アセチルグルコサミン誘導体は、前記一般式（1）又は（2）で表わされる。R<sup>1</sup>は、炭素数2～16の直鎖または分岐したアルキル基であり、好ましくは7～12であり、飽和であっても、不飽和であっても良い。R<sup>2</sup>は、Hまたは炭素数2～16の直鎖もしくは分岐したアルキル基あり、好ましくは8～12であり、飽和であっても、不飽和であっても良い。R<sup>3</sup>は炭素数1～15の直鎖または分岐したアルキル基であり、好ましくは6～11であり、飽和であっても、不飽和であっても良い。また、一般式（1）及び（2）のどちらについても、波線部で示される1位の-O R<sup>1</sup>及び-O R<sup>2</sup>の立体構造は、 $\alpha$ あるいは $\beta$ のどちらか一方であるか、またはその混合物である。具体的には、例えば、下記の化学式で表わされるものを挙げることができる。

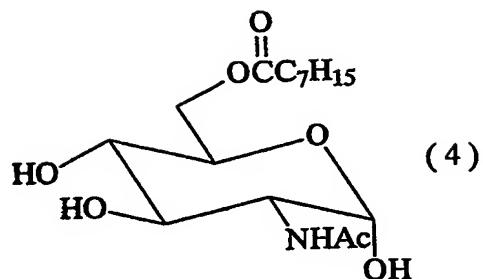
## 【0014】

## 【化13】



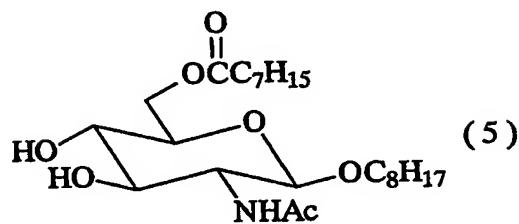
【0015】

【化14】



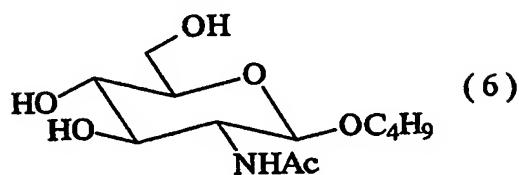
【0016】

【化15】



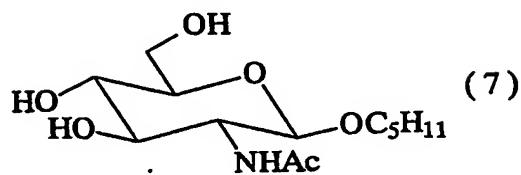
【0017】

【化16】



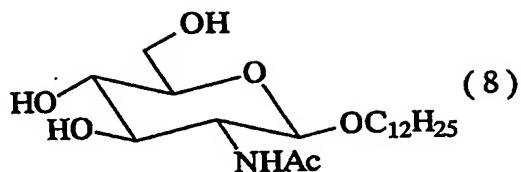
【0018】

【化17】



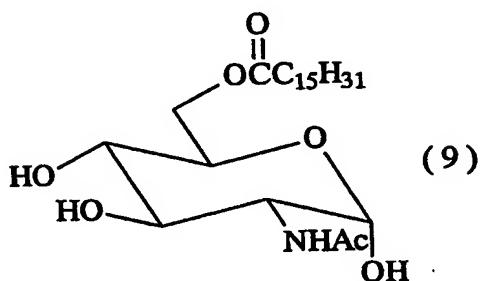
【0019】

【化18】



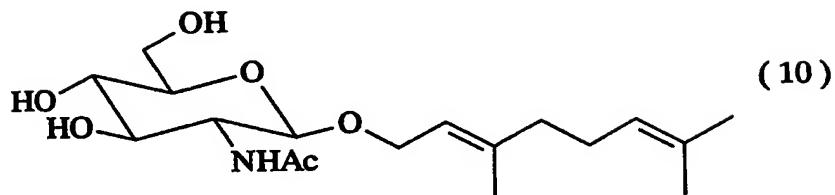
【0020】

【化19】



【0021】

【化20】



【0022】

これらの化合物は、既知のグリコシル化反応を用いて合成することができる。例えば、合成方法の概略を示すとすれば、一般式（1）で示される化合物は、酸触媒下、N-アセチルグルコサミンとアルコールとのグリコシル化反応により、 $\alpha$ 、 $\beta$ 混合のグリコシドを製造することができ、シリカゲルカラムを用いれば $\alpha$ 、 $\beta$ を単離することもできる。さらに、オキサゾリン合成方法を用いれば单一化合物の $\beta$ -グリコシドのみを製造することができる。また、一般式（2）で示さ

れる化合物は、N-アセチルグルコサミンまたは一般式（1）で示される化合物を溶媒中で加熱溶解し、それに種々の脂肪酸のハロゲン化物、あるいは無水物及び適宜触媒を加えて反応を行うことにより製造することができる。

### 【0023】

本発明に係るヒアルロン酸產生促進剤、皮膚外用剤は、軟膏、ローション、乳液、ミルク、パップ剤、パック、ミスト、フォーム、顆粒、粉末、ゲル等種々の剤形とすることができます。なお、本発明において、皮膚外用剤とは、頭皮を含む身体のすべての皮膚を対象とし外用により適用するものであり、入浴剤を包含するものである。基剤は、一般に用いられる外用基剤ならば特に制限されない。また、最終形態は、化粧料、医薬品、医薬部外品とすることができます。

### 【0024】

N-アセチルグルコサミン誘導体のヒアルロン酸產生促進剤、皮膚外用剤への配合量は、組成物総量を基準として、全組成量の0.00001～5.0質量%が好ましく、0.001～1.0質量%が更に好ましい。0.00001質量%未満の配合量では本発明の目的とする効果が充分でない場合があり、5.0質量%を超えてもその增加分に見合った効果の向上はない場合がある。

### 【0025】

#### 【実施例】

以下、実施例及び試験例により詳細に説明する。なお、本発明は以下の実施例に何ら限定されるものではない。

### 【0026】

#### 実施例1

オクチル(2-アセトアミド-2-デオキシ)β-D-グルコピラノシド [一般式（3）の化合物] の製造：

2-アセトアミド-1, 3, 4, 6-テトラ-O-アセチル-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノシド2 gを無水クロロホルム20 mLに溶かした後、トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル1.0 mLを加え室温で5時間攪拌した。反応混合液にクロロホルムを加え飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄後、クロロホルム層を無水硫酸マグネシウムで乾燥、次いで減圧下溶媒を留去した

。残渣をジクロロエタン 1.5 mL に溶かし、1-オクタノール 0.89 mL と (±)-シジョウのう-10-スルホン酸 119 mg を加え、60°Cで2時間攪拌した。反応混合液にクロロホルムを加え飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄後、クロロホルム層を無水硫酸マグネシウムで乾燥、減圧下溶媒を留去した。最後に得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶出溶媒；n-ヘキサン：酢酸エチル = 2 : 3）を用いて単離して精製物とした。これをメタノール 1.0 mL と 1,4-ジオキサン 5 mL の混合溶媒に溶かし、28%ナトリウムメチラートメタノール溶液を触媒量加え、室温で1時間攪拌した。反応混合液を中和した後、溶媒を留去した。最後に得られた残渣を水で結晶化することによって、オクチル(2-アセトアミド-2-デオキシ)β-D-グルコピラノシドを白色結晶として 840 mg 得た。

### 【0027】

オクチル(2-アセトアミド-2-デオキシ)β-D-グルコピラノシドの<sup>1</sup>H-NMR 測定結果を示す。

NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 0.85 (t, 3H, J = 6.6 Hz), 1.23 (s, 10H), 1.40–1.45 (m, 2H), 1.77 (s, 3H), 3.00–3.10 (m, 2H), 3.20–3.50 (m, 4H), 3.65–3.75 (m, 2H), 4.25 (d, 1H, J = 8.3 Hz), 4.40 (t, 1H), 4.78 (d, 1H), 4.87 (d, 1H), 7.58 (d, 1H, J = 8.7 Hz).

### 【0028】

#### 実施例2

2-アセトアミド-2-デオキシ-6-O-オクタノイル-α-D-グルコピラノース [一般式(4)の化合物] の製造：

N-アセチルグルコサミン 0.5 g にピリジン 5 mL、N,N-ジメチルホルムアミド 5 mL を加え、攪拌しながら 70°C に加熱し、n-オクタノイルクロリド 0.46 mL を滴下して 4 時間反応させた。反応終了後、酢酸エチルで抽出、2 mol/L 塩酸で洗浄後、酢酸エチル層を無水硫酸マグネシウムで乾燥、次いで

で減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶出溶媒；クロロホルム：メタノール=15:1）を用いて精製し、2-アセトアミド-2-デオキシ-6-O-オクタノイル- $\alpha$ -D-グルコピラノースを白色結晶として170mg得た。

### 【0029】

2-アセトアミド-2-デオキシ-6-O-オクタノイル- $\alpha$ -D-グルコピラノースの<sup>1</sup>H-NMR測定結果を示す。

NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  : 0.92 (t, 3H, J=6.8Hz), 1.33 (s, 10H), 1.55-1.60 (m, 2H), 1.89 (s, 3H), 2.34 (t, 2H), 3.15-3.20 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.65-3.70 (m, 1H), 3.85-3.90 (m, 1H), 4.08 (dd, 1H, J=6.0, 11.6Hz), 4.35 (dd, 1H, J=2.1, 11.8Hz), 4.70 (d, 1H, J=5.4Hz), 4.96 (t, 1H, J=3.5, 4.3Hz), 5.13 (d, 1H, J=5.8Hz), 6.54 (d, 1H, J=4.7Hz), 7.61 (d, 1H, J=8.1Hz) .

### 【0030】

#### 実施例3

オクチル(2-アセトアミド-2-デオキシ-6-O-オクタノイル) $\beta$ -D-グルコピラノシド [一般式(5)の化合物] の製造：

実施例1で示された化合物 [一般式(3)] 100mgをピリジン1mLに溶かし、n-オクタノイルクロリド61 $\mu$ Lを滴下して4時間反応させた。反応終了後、クロロホルムで抽出、2mol/L塩酸で洗浄後、酢酸エチル層を無水硫酸マグネシウムで乾燥、次いで減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶出溶媒；クロロホルム：メタノール=20:1）を用いて精製し、オクチル(2-アセトアミド-2-デオキシ-6-O-オクタノイル) $\beta$ -D-グルコピラノシドを白色結晶として40mg得た。

### 【0031】

オクチル(2-アセトアミド-2-デオキシ-6-O-オクタノイル) $\beta$ -D-

グルコピラノシドの<sup>1</sup>H-NMR測定結果を示す。

NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 0. 85 (t, 3H, J=6. 8 Hz), 1. 23 (s, 18 H), 1. 40-1. 45 (m, 2H), 1. 50-1. 55 (m, 2H), 1. 78 (s, 3H), 2. 28 (t, 2H), 3. 05-3. 10 (m, 1H), 3. 25-3. 40 (m, 4H), 3. 60-3. 65 (m, 1H), 4. 05 (dd, 1H, J=7. 2, 11. 6 Hz), 4. 28 (d, 1H, J=8. 0 Hz), 4. 30 (dd, 1H, J=1. 6, 11. 6 Hz), 4. 90 (d, 1H, J=4. 8 Hz), 5. 12 (d, 1H, J=5. 2 Hz), 7. 61 (d, 1H, J=8. 4 Hz).

### 【0032】

#### 実施例4

ブチル(2-アセトアミド-2-デオキシ)β-D-グルコピラノシド [一般式(6)の化合物] の製造：

実施例1の1-オクタノールの代わりに1-ブタノールを用いて、実施例1と同様の反応を行わせ、白色結晶のブチル(2-アセトアミド-2-デオキシ)β-D-グルコピラノシドを280mg得た。

### 【0033】

ブチル(2-アセトアミド-2-デオキシ)β-D-グルコピラノシドの<sup>1</sup>H-NMR測定結果を示す。

NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 0. 83 (t, 3H, J=7. 1 Hz), 1. 20-1. 30 (m, 2H), 1. 40-1. 50 (m, 2H), 1. 78 (s, 3H), 3. 00-3. 05 (m, 2H), 3. 25-3. 45 (m, 4H), 3. 65-3. 70 (m, 2H), 4. 26 (d, 1H, J=8. 0 Hz), 4. 39 (t, 1H, J=5. 8 Hz), 4. 77 (d, 1H, J=5. 0 Hz), 4. 86 (d, 1H, J=4. 4 Hz), 7. 57 (d, 1H, J=8. 7 Hz).

### 【0034】

#### 実施例5

ペンチル(2-アセトアミド-2-デオキシ)β-D-グルコピラノシド [一般

## 式(7)の化合物]の製造：

実施例1の1-オクタノールの代わりに1-ペンタノールを用いて、実施例1と同様の反応を行わせ、白色結晶のペンチル(2-アセトアミド-2-デオキシ)β-D-グルコピラノシドを150mg得た。

## 【0035】

ペンチル(2-アセトアミド-2-デオキシ)β-D-グルコピラノシドの<sup>1</sup>H-NMR測定結果を示す。

NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 0.85(t, 3H, J=6.0Hz), 1.20-1.25(m, 4H), 1.40-1.45(m, 2H), 1.78(s, 3H), 3.05-3.10(m, 2H), 3.20-3.45(m, 4H), 3.65-3.75(m, 2H), 4.26(d, 1H, J=8.0Hz), 4.40(t, 1H, J=6.0Hz), 4.78(d, 1H, J=4.8Hz), 4.87(d, 1H), 7.58(d, 1H, J=8.8Hz).

## 【0036】

## 実施例6

ラウリル(2-アセトアミド-2-デオキシ)β-D-グルコピラノシド〔一般式(8)の化合物〕の製造：

実施例1の1-オクタノールの代わりに1-ドデカノールを用いて、実施例1と同様の反応を行わせ、白色結晶のラウリル(2-アセトアミド-2-デオキシ)β-D-グルコピラノシドを450mg得た。

## 【0037】

ラウリル(2-アセトアミド-2-デオキシ)β-D-グルコピラノシドの<sup>1</sup>H-NMR測定結果を示す。

NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 0.85(t, 3H, J=6.0Hz), 1.3(s, 18H), 1.40-1.45(m, 2H), 1.84(s, 3H), 3.00-3.10(m, 2H), 3.20-3.50(m, 4H), 3.65-3.75(m, 2H), 4.25(d, 1H, J=8.0Hz), 4.40(t, 1H, J=5.6Hz), 4.79(d, 1H, J=5.2Hz), 4.85(d, 1H, J=4.4Hz), 7.08(d, 1H, J=8.8Hz).

## 【0038】

## 実施例 7

2-アセトアミド-2-デオキシ-6-O-パルミトイール- $\alpha$ -D-グルコピラノース [一般式(9)の化合物] の製造：

N-アセチルグルコサミン 1 g にピリジン 5 mL、N,N-ジメチルホルムアミド 1.5 mL を加え、攪拌しながら 70 °C に加熱し、パルミトイールクロリド 1.37 mL を滴下して 4 時間反応させた。反応終了後、酢酸エチルで抽出、2 mol/L 塩酸で洗浄後、酢酸エチル層を無水硫酸マグネシウムで乾燥、次いで減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶出溶媒；クロロホルム：メタノール = 1.5 : 1）を用いて精製し、2-アセトアミド-2-デオキシ-6-O-パルミトイール- $\alpha$ -D-グルコピラノースを白色結晶として 710 mg 得た。

## 【0039】

2-アセトアミド-2-デオキシ-6-O-パルミトイール- $\alpha$ -D-グルコピラノースの  $^1\text{H-NMR}$  測定結果を示す。

NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  : 0.85 (t, 3 H, J = 6.5 Hz), 1.25 (s, 24 H), 1.45–1.55 (m, 2 H), 1.82 (s, 3 H), 2.30 (t, 2 H), 3.05–3.15 (m, 1 H), 3.45–3.65 (m, 2 H), 3.75–3.85 (m, 1 H), 4.00 (dd, 1 H, J = 5.7, 11.8 Hz), 4.28 (dd, 1 H, J = 2.0, 11.8 Hz), 4.65 (d, 1 H, J = 5.7 Hz), 4.90 (t, 1 H, J = 3.7, 4.1 Hz), 5.07 (d, 1 H, J = 5.7 Hz), 6.45 (d, 1 H, J = 4.5 Hz), 7.55 (d, 1 H, J = 8.1 Hz).

## 【0040】

## 実施例 8

ゲラニル (2-アセトアミド-2-デオキシ)  $\beta$ -D-グルコピラノシド [一般式(10)の化合物] の製造：

実施例 1 の 1-オクタノールの代わりにゲラニオールを用いて、実施例 1 と同様の反応を行わせ、白色結晶のゲラニル (2-アセトアミド-2-デオキシ)  $\beta$

-D-グルコピラノシドを890mg得た。

#### 【0041】

ゲラニル（2-アセトアミド-2-デオキシ） $\beta$ -D-グルコピラノシドの<sup>1</sup>H-NMR測定結果を示す。

NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  : 1. 57, 1. 60, 1. 65 (3 s, 9 H), 1. 79 (s, 3 H), 1. 95-2. 05 (m, 4 H), 3. 05-3. 10 (m, 2 H), 3. 30-3. 40 (m, 2 H), 3. 47 (dt, 1 H, J = 5. 2, 12. 0 Hz), 3. 68 (dd, 1 H, J = 5. 6, 11. 6 Hz), 4. 02 (dd, 1 H, J = 7. 2, 12. 0 Hz), 4. 17 (dd, 1 H, J = 5. 2 Hz), 4. 87 (d, 1 H), 5. 05-5. 10 (m, 1 H), 5. 21 (t, 1 H, J = 6. 4 Hz), 7. 59 (d, 1 H, J = 8. 8 Hz).

#### 【0042】

次に、上記実施例で得られたN-アセチルグルコサミン誘導体を使用した本発明の評価について試験例を説明する。

#### 【0043】

試験例1（ヒト正常表皮細胞に対するヒアルロン酸産生促進試験）

ヒト正常表皮細胞（クラボウ社製）を24穴プレートに播種し、コンフルエンスまで増殖用培地にて培養後、前記実施例1～3、6～8で製造したN-アセチルグルコサミン誘導体を終濃度50μmol/L（実施例7のみ25μmol/L）、また実施例4と5で製造したN-アセチルグルコサミン誘導体を終濃度1mmol/Lとなるよう添加した。添加より48時間培養後、培地中に放出されたヒアルロン酸を測定した。ヒアルロン酸の測定は、市販のヒアルロン酸測定キット（中外製薬社製）を用いておこなった。

#### 【0044】

ヒアルロン酸産生量は、終濃度1mmol/LとなるようにN-アセチルグルコサミンを添加した比較例1を1とした試験物質含有培地で培養した表皮細胞のヒアルロン酸量と定義した。結果を図1及び図2に示す。

#### 【0045】

図1に示すように、実施例1のオクチル(2-アセトアミド-2-デオキシ) $\beta$ -D-グルコピラノシド[一般式(3)の化合物]、実施例2の2-アセトアミド-2-デオキシ-6-O-オクタノイル- $\alpha$ -D-グルコピラノース[一般式(4)の化合物]、実施例3のオクチル(2-アセトアミド-2-デオキシ-6-O-オクタノイル) $\beta$ -D-グルコピラノシド[一般式(5)の化合物]、実施例6のラウリル(2-アセトアミド-2-デオキシ) $\beta$ -D-グルコピラノシド[一般式(8)の化合物]及び実施例7の2-アセトアミド-2-デオキシ-6-O-パルミトイール- $\alpha$ -D-グルコピラノース[一般式(9)の化合物]、実施例8のゲラニル(2-アセトアミド-2-デオキシ) $\beta$ -D-グルコピラノシド[一般式(10)の化合物]は、N-アセチルグルコサミンと比べて20分の1程度(実施例7では40分の1程度)の濃度で2.5~3.5倍のヒアルロン酸産生促進効果を示した。特に、一般式(2)において、R2が水素の化合物の産生促進活性が高かった。また、図2に示すように、実施例4のブチル(2-アセトアミド-2-デオキシ) $\beta$ -D-グルコピラノシド[一般式(6)の化合物]、実施例5のペンチル(2-アセトアミド-2-デオキシ) $\beta$ -D-グルコピラノシド[一般式(7)の化合物]も、N-アセチルグルコサミンと同濃度で1.5~3倍のヒアルロン酸産生促進効果を示した。

#### 【0046】

##### 試験例2(ヒト正常真皮線維芽細胞に対するヒアルロン酸産生促進試験)

ヒト正常真皮線維芽細胞(American Type Culture Collection社製)を24穴プレートに播種し、コンフルエントまで増殖用培地にて培養後、前記実施例1で示したN-アセチルグルコサミン誘導体を100 $\mu$ mol/L、また実施例6で示したN-アセチルグルコサミン誘導体を25 $\mu$ mol/L添加した。添加より48時間培養後、培地中に放出されたヒアルロン酸を測定した。ヒアルロン酸の測定は、市販のヒアルロン酸測定キット(中外製薬社製)を用いておこなった。

#### 【0047】

ヒアルロン酸産生量は、1mmol/LのN-アセチルグルコサミンを添加した比較例2に対する試験物質含有培地で培養した真皮線維芽細胞のヒアルロン酸

量と定義した。結果を図3に示す。

#### 【0048】

図3に示すように、実施例1のオクチル(2-アセトアミド-2-デオキシ) $\beta$ -D-グルコピラノシド[一般式(3)の化合物]、実施例6のラウリル(2-アセトアミド-2-デオキシ) $\beta$ -D-グルコピラノシド[一般式(8)の化合物]の両化合物とも、N-アセチルグルコサミンと比べて1/10~1/40程度の濃度で1.5~2倍のヒアルロン酸産生促進効果を示した。

#### 【0049】

##### 試験例3及び4（被験者による評価）

40-60代の女性被験者を1群20名の8群に分け、表1に示す組成のクリーム（試験例3、比較例3）及び表2に示す化粧水（試験例4、比較例4）の各々を、それぞれ別の1群に与え、1日2回、適量を顔面に塗布し、3ヶ月連用させた。連用後、肌の張り感を評価した。

評価は著効（肌の張り感が、かなり改善された）、有効（肌の張り感が良好に改善された）、やや有効（肌の張り感が改善された）、効果なし（変化無し）の4段階で評価した。著効、有効と答えた合計人数の割合（%）によって効果を判定した。

#### 【0050】

【表1】

	試験例3	比較例3
実施例1の化合物	0.1	—
ステアリン酸	2	
モノステアリン酸グリセリン	2	
セタノール	3	
コレステロール	0.5	
ワセリン	2	
スクワラン	10	
流動パラフィン	10	
ジメチルポリシロキサン	1	
ブチルパラベン	0.1	
メチルパラベン	0.1	
N-ステアロイルグルタミン酸ナトリウム	1	
グリセリンジプロピレングリコール	5	
精製水	残量	
合計	100	
評価(%)	80	45

\*含有量は全て質量%である。

【0051】

【表2】

	試験例4	比較例4
実施例1の化合物	0.01	—
エタノール	10	
ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(60E.O.)	1	
グリセリン	3	
1,3-ブチレングリコール	2	
ジプロピレングリコール	3	
リン酸1カリウム	0.05	
リン酸2ナトリウム	0.05	
エデト酸2ナトリウム	0.05	
メチルパラベン	0.1	
精製水	残量	
計	100	
評価(%)	55	30

\*含有量は全て質量%である。

## 【0052】

表1及び表2より、本発明の化粧料である実施例1は、皮膚の張り感改善効果を有することがわかった。

## 【0053】

尚、いずれの実施例の化粧料を使用した場合にも、皮膚に発赤、炎症、その他副作用と考えられる症状は発現せず、本発明に係る化粧料は安全性にも優れることが明らかであった。

## 【0054】

応用例1（スキンクリーム）

下記組成のスキンクリームを常法により調製した。

## 【0055】

原料成分	配合量（質量%）
・蜜ロウ	2.0
・ステアリン酸	5.0
・ステアリルアルコール	5.0
・還元ラノリン	2.0
・スクワレン	20.0
・ソルビタンモノステアレート	3.0
・ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノステアレート	3.0
・プロピレングリコール	5.0
・メチルパラベン	0.2
・実施例1の化合物	0.1
・精製水	総量を100とする残量

## 【0056】

応用例2（スキンクリーム）

下記組成のスキンクリームを常法により調製した。

## 【0057】

原料成分	配合量（質量%）
・蜜ロウ	2.0
・ステアリン酸	5.0
・ステアリルアルコール	5.0
・還元ラノリン	2.0
・スクワレン	20.0
・ソルビタンモノステアレート	3.0
・ポリオキシエチレン(20)ソルビタン モノステアレート	3.0
・プロピレングリコール	5.0
・メチルパラベン	0.2
・実施例2の化合物	0.5
・精製水	総量を100と する残量

## 【0058】

応用例3（スキンローション）

下記組成のスキンローションを常法により調製した。

## 【0059】

原料成分	配合量（質量%）
・オリーブ油	10.0
・ミリスチン酸イソプロピル	1.0
・ポリオキシエチレン(6)ノニル	0.5
フェニールエーテル	
・プロピレングリコール	1.0
・グリセリン	2.0
・メチルパラベン	0.1

・エタノール	7. 0
・実施例 3 の化合物	0. 5
・精製水	総量を 100 と する残量

## 【0060】

応用例 4 (スキンローション)

下記組成のスキンローションを常法により調製した。

## 【0061】

原料成分	配合量 (質量%)
・オリーブ油	10. 0
・ミリスチン酸イソプロピル	1. 0
・ポリオキシエチレン (6) ノニル	0. 5
フェニールエーテル	
・プロピレングリコール	1. 0
・グリセリン	2. 0
・メチルパラベン	0. 1
・エタノール	7. 0
・実施例 5 の化合物	1. 0
・精製水	総量を 100 と する残量

## 【0062】

応用例 5 (入浴剤)

下記組成の入浴剤を常法により調製した。

## 【0063】

原料成分	配合量 (質量%)
・実施例 2 の化合物	1. 0
・炭酸水素ナトリウム	バランス

・炭酸ナトリウム	20.0
・硫酸ナトリウム	15.0
・塩化ナトリウム	7.5
・無水ケイ酸	0.5
・1, 3-ブチレングリコール	1.0
・尿素	1.0
・海藻エキス	1.0
・色素	適量
・デキストリン	適量
・香料	適量

## 【0064】

応用例6～8（スキンクリーム）

下記処方にてスキンクリームを常法により調製した。

原料成分	配合量（質量%）		
	応用例6	7	8
・実施例1の化合物	0.1	—	—
・実施例2の化合物	—	0.1	—
・実施例3の化合物	—	—	0.1
・ステアリン酸	1	1	—
・イソステアリン酸	—	—	1
・モノステアリン酸グリセリン	2	2	2
・ベヘニルアルコール	2	2	2
・サラシミツロウ	1	1	—
・ミリスチン酸セチル	1	1	1
・セスキオレイン酸ソルビタン	1	1	1
・N-ステアロイルフィトスフィンゴシン	0.1	0.1	0.1
・水素添加レシチン	0.1	0.1	0.1
・植物スクワラン	5	5	5

・ミリスチン酸オクチルドデシル	5	5	5
・オウバク抽出物	0. 1	1	0. 1
・火棘抽出物	0. 1	0. 3	—
・水溶性甘草抽出物	—	—	0. 1
・1, 3-ブチレングリコール	5	10	5
・濃グリセリン	5	5	5
・パラオキシ安息香酸エステル	0. 2	0. 2	0. 2
・N-アセチルグルコサミンオリゴマー	0. 1	0. 1	0. 1
・アスコルビン酸リン酸エステルMg塩	0. 1	0. 1	0. 1
・アスコルビン酸リン酸エステルNa塩	0. 1	0. 1	0. 1
・γ-アミノ酪酸	0. 1	0. 1	0. 1
・N-ステアロイルグルタミン酸ナトリウム	0. 2	0. 2	0. 2
・アルキル変性カルボキシ	0. 05	0. 05	0. 05

## ビニルポリマー \*1

・ニコチン酸アミド	0. 1	0. 1	0. 1
・ザルコシン	0. 1	0. 1	0. 1
・精製水	残量	残量	残量

\*1 ; B. F. Goodrich社製 PEMULEN TR-1

## 【0065】

## 応用例9～11（ローション）

下記処方にローションを常法により調製した。

原料成分	配合量（質量%）		
	応用例9	10	11
<hr/>			
・実施例1の化合物	0. 1	—	—
・実施例2の化合物	—	0. 1	—
・実施例3の化合物	—	—	0. 1
・オウバク抽出液	0. 1	0. 3	0. 3
・ハイビスカスエキス	0. 2	0. 5	0. 5

・乳酸菌培養液	0. 1	0. 1	0. 1
・1, 3-ブチレングリコール	5	5	5
・ジプロピレングリコール	5	5	5
・ラフィノース	1	1	1
・エタノール	1	1	1
・フェノキシエタノール	0. 2	0. 2	0. 2
・ペクチン	0. 05	0. 05	0. 05
・キサンタンガム	0. 1	0. 1	0. 1
・クエン酸ナトリウム	0. 05	0. 05	0. 05
・スギナ抽出液	0. 1	0. 1	0. 1
・ジイソプロピルアミンジクロロ酢酸	0. 2	0. 2	0. 2
・γ-アミノ-β-ヒドロキシ酪酸	0. 2	0. 2	0. 2
・ヒアルロン酸ナトリウム	0. 001	0. 001	0. 01
・グリチルリチン酸ジカリウム	0. 2	0. 2	0. 2
・クリタケエキス	0. 05	0. 05	0. 05
・デカルボキシカルノシン塩酸塩	0. 05	0. 05	0. 05
・香料	0. 02	0. 02	0. 02
・精製水	残量	残量	残量

## 【0066】

応用例12～14（ジェル）

下記処方にてジェルを常法により調製した。

原料成分	配合量（質量%）		
	応用例12	13	14
<hr/>			
・実施例1の化合物	0. 1	—	—
・実施例2の化合物	—	0. 1	—
・実施例3の化合物	—	—	0. 1
・デカメチルシクロペンタシロキサン	10	10	10
・イソステアリン酸イソステアリル	1	—	—

・オリーブ油	-	1	-
・マカデミアナッツ油	-	-	1
・ユーカリ油	0. 1	-	0. 1
・ヘキシルデカノール	1	0. 1	-
・ニコチン酸d1αトコフェロール	-	0. 1	-
・ポリオキシエチレン(60)	2	2	2
<b>硬化ヒマシ油</b>			
・球状シリコーン粉体 *2	1	1	5
・オウバク抽出物	0. 1	1	0. 1
・水溶性葉緑素	0. 02	0. 02	0. 02
・サルビア抽出物	-	0. 3	0. 1
・1, 3-ブチレングリコール	5	10	5
・ソルビトール液	3	3	3
・ポリエチレングリコール4000	1	1	1
・カルボキシビニルポリマー	0. 2	0. 2	0. 2
・糖セラミド *3	0. 1	0. 1	0. 1
・パラオキシ安息香酸エステル	0. 2	0. 2	0. 2
・メバロノラクトン	0. 5	0. 5	0. 5
・エデト酸塩	0. 02	0. 02	0. 02
・水酸化カリウム	0. 05	0. 05	0. 05
・精製水	残量	残量	残量

\*2 ; G E 東芝シリコーン社製 トスパール

\*3 ; 紀文フードケミカル社製 バイオセラミド

**【0067】**

応用例15～17（親油性クリーム）

下記処方にて親油性クリームを常法により調製した。

原料成分	配合量（質量%）		
	応用例15	16	17

-----

・実施例1の化合物	0. 1	—	—
・実施例2の化合物	—	0. 1	—
・実施例3の化合物	—	—	0. 1
・共変性シリコーン *4	2	2	2
・ポリオオキシエチレン	—	2	—
変性シリコーン分散液 *5			
・スクワラン	—	—	1 0
・デカメチルシクロペンタシロキサン	1 5	2 0	1 0
・メチルポリシロキサン	5	2	3
・長鎖分岐脂肪酸コレステリル *6	—	—	3
・シリコーンエラストマー分散液 *7	5	2	—
・オウバク抽出物	1	1	1
・甘草抽出物	0. 1	0. 1	0. 1
・水溶性葉緑素	0. 02	0. 02	0. 02
・塩化ナトリウム	1	1	1
・ジプロピレングリコール	5	5	5
・濃グリセリン	5	5	5
・ラフィノース	1	1	1
・パラオキシ安息香酸エステル	0. 3	0. 3	0. 3
・N-メチル-L-セリン	0. 5	0. 5	0. 5
・精製水	残量	残量	残量

\*4 ; ゴールドシュミット社製 ABIL EM90

\*5 ; 東レダウコーニングシリコーン社製 シリコンBY22-008

\*6 ; 日本精化社製 YOFCO CLE-NH

\*7 ; 東レダウコーニングシリコーン社製 トレフィル

## 【0068】

応用例18~20 (サンスクリーン)

下記処方にてサンスクリーンを常法により調製した。

原料成分

配合量 (質量%)

## 応用例 18 19 20

・実施例1の化合物	0.1	—	—
・実施例2の化合物	—	0.1	—
・実施例3の化合物	—	—	0.1
・ジオクチルエーテル	10	10	10
・共変性シリコーン *4	2	2	2
・トリ2-エチルヘキサン酸グリセリル	5	5	5
・硬化油	0.1	0.1	0.1
・メチルフェニルポリシロキサン	3	3	3
・マカデミアナッツ脂肪酸フィトステリル	—	—	2
・パラメトキシ桂皮酸2-エチルヘキシル	—	7	7
・酸化チタン	5	5	4
・酸化亜鉛	5	5	4
・オウバク抽出物	1	1	1
・塩化マグネシウム	1	1	1
・1, 3-ブチレングリコール	5	5	5
・フェノキシエタノール	0.3	0.3	0.3
・ハイビスカスエキス	1	1	1
・アロエ抽出物	0.1	0.1	0.1
・酵母エキス *8	1	1	1
・精製水	残量	残量	残量

\*4 ; ゴールドシュミット社製 ABIL EM90

\*8 ; ペンタファーム社製 デイスムチン

## 【0069】

## 応用例 21 (化粧水)

・エタノール	10
・ポリオキシエチレン(60)硬化ヒマシ油	1
・グリセリン	3

・ 1, 3-ブチレングリコール	2
・ ジプロピレングリコール	3
・ ポリエチレングリコール1500	1
・ リン酸塩	適量
・ エデト酸塩	適量
・ メチルパラベン	適量
・ 実施例7の化合物	0.1
・ 抗酸化剤	適量
・ 精製水	残量

## 【0070】

応用例22、23（乳液）

	応用例22	応用例23
・ ステアリン酸	1	1
・ ステアリン酸グリセリンエステル	2	2
・ セタノール	1	1
・ コレステロール	0.5	0.5
・ ワセリン	2	2
・ スクワラン	5	5
・ 流動パラフィン	5	5
・ シリコーン油	1	1
・ アシルグルタミン酸塩	1	1
・ キサンタンガム	0.5	0.5
・ グリセリン	2	2
・ ジプロピレングリコール	3	3
・ 実施例2の化合物	0.1	—
・ 実施例7の化合物	—	0.1
・ ブチルパラベン	適量	適量
・ 抗酸化剤	適量	適量
・ 精製水	残量	残量

## 【0071】

## 応用例24、25（クリーム）

	応用例24	応用例25
・ステアリン酸	2	2
・ステアリン酸グリセリンエステル	2	2
・セタノール	3	3
・コレステロール	0.5	0.5
・ワセリン	2	2
・スクワラン	5	5
・流動パラフィン	10	10
・シリコーン油	1	1
・アシルグルタミン酸塩	1	1
・キサンタンガム	0.5	0.5
・グリセリン	5	5
・ジプロピレングリコール	3	3
・実施例2の化合物	0.1	—
・実施例7の化合物	—	0.1
・ブチルパラベン	適量	適量
・抗酸化剤	適量	適量
・精製水	残量	残量

## 【0072】

## 応用例26、27（サンスクリーン）

	応用例26	応用例27
・エタノール	10	10
・メトキシ桂皮酸オクチル	7	7
・P O E ・ P O P 変性ジメチルポリシロキサン	2	2
・微粒子酸化チタン	5	5
・酸化亜鉛	5	5
・環状シリコーン	10	10

・ジメチルポリシロキサン (6 c s)	1 0	1 0
・実施例 2 の化合物	0 . 1	—
・実施例 7 の化合物	—	0 . 1
・抗酸化剤	適量	適量
・精製水	残量	残量

**【0073】****【発明の効果】**

以上記載の如く、本発明は簡便かつ容易に合成可能な、表皮のヒアルロン酸産生促進剤を提供できることは明らかである。また、本発明によって皮膚の老化防止（皮膚のハリや弾力性、潤いの維持）が可能となる。

**【図面の簡単な説明】****【図 1】**

実施例 1～3 及び 6～8 を用いた表皮細胞のヒアルロン酸産生促進試験（試験例 1）の結果を示す図である。

**【図 2】**

実施例 4 と 5 を用いた表皮細胞のヒアルロン酸産生促進試験（試験例 1）の結果を示す図である。

**【図 3】**

実施例 1 と 6 を用いた真皮細胞のヒアルロン酸産生促進試験（試験例 2）の結果を示す図である。

願2003-009365

ページ： 1/

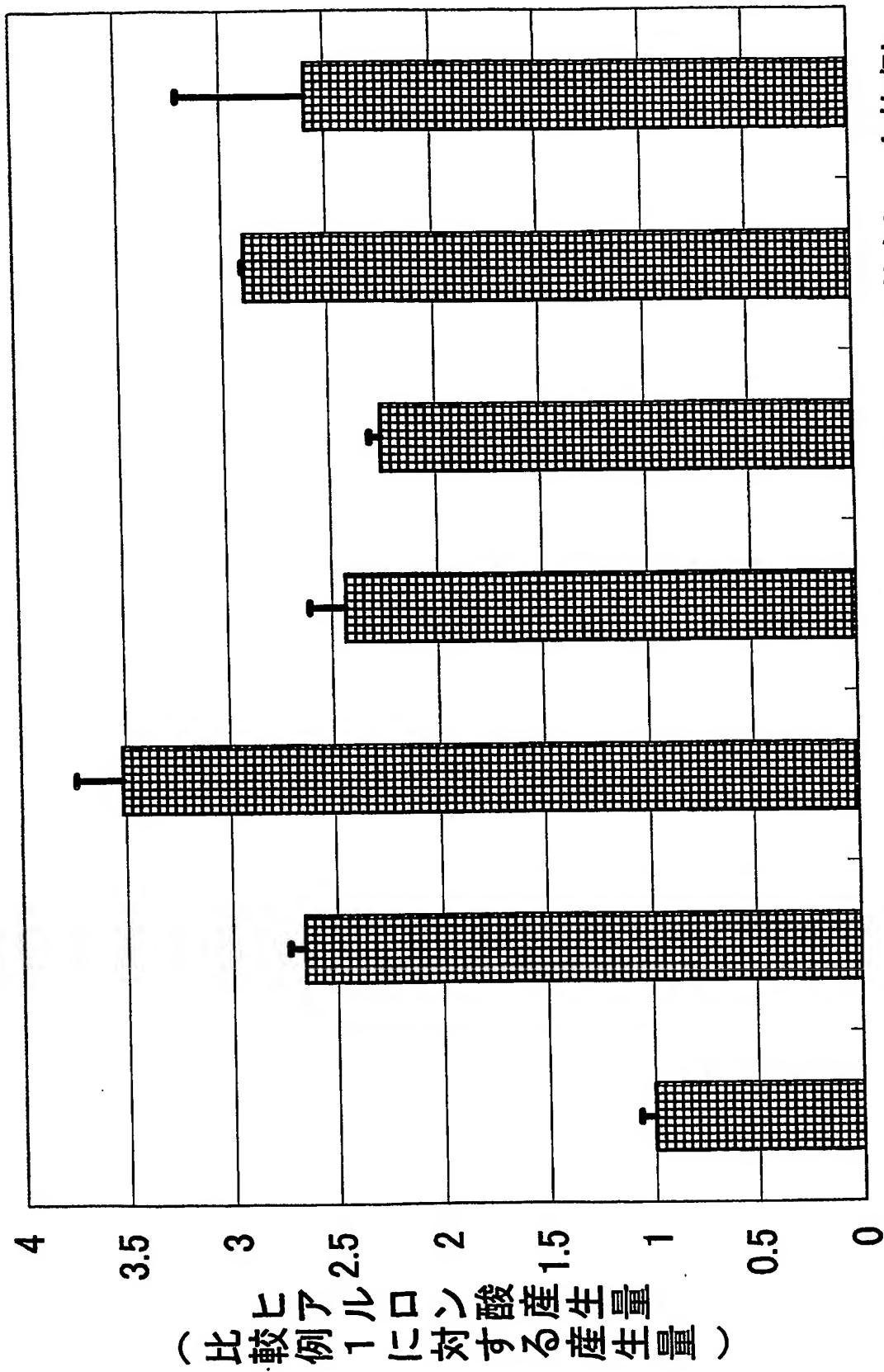
【書類名】

図面

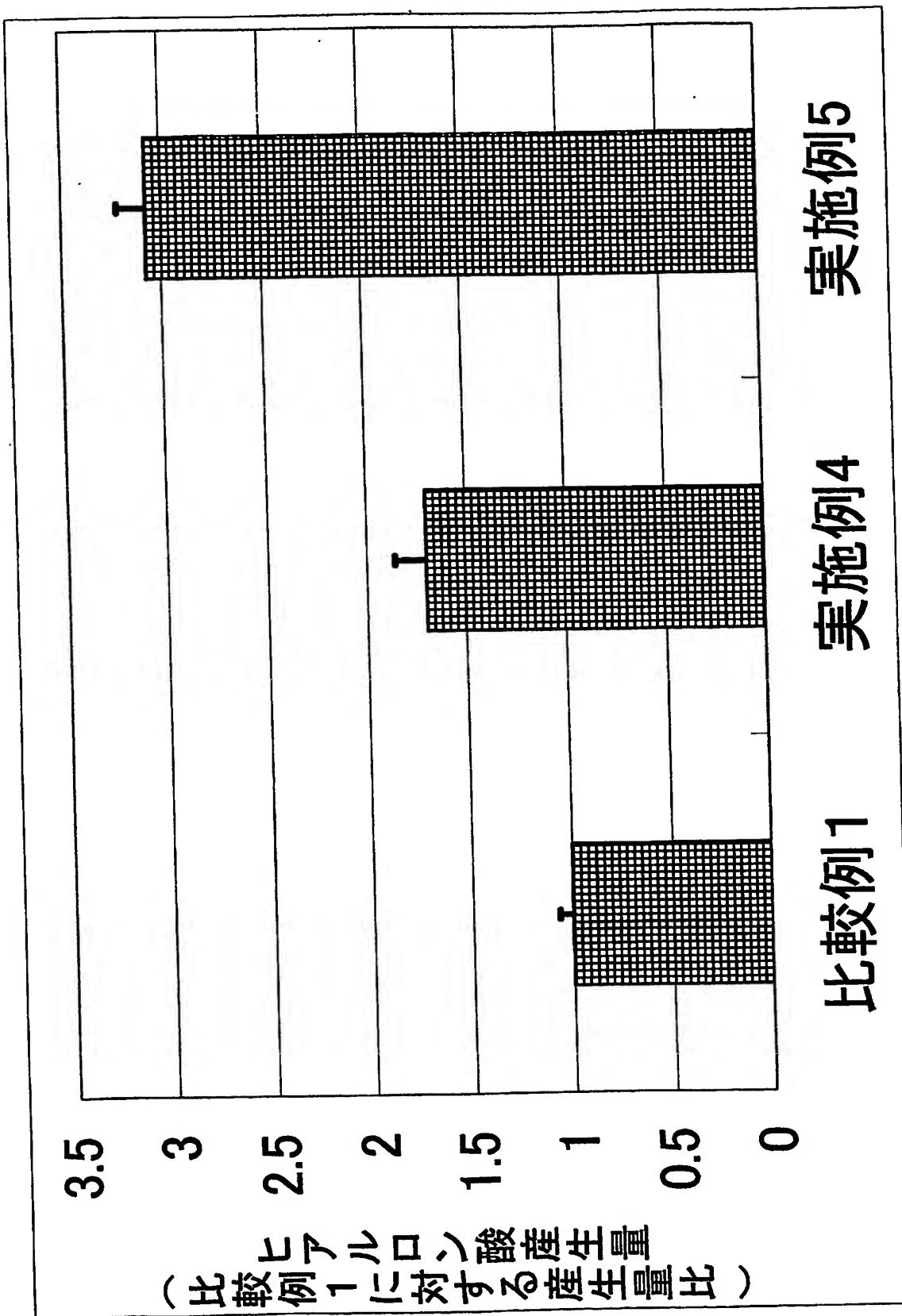
THIS PAGE BLANK (USPTO)

出証特2003-3070471

【図1】



【図2】



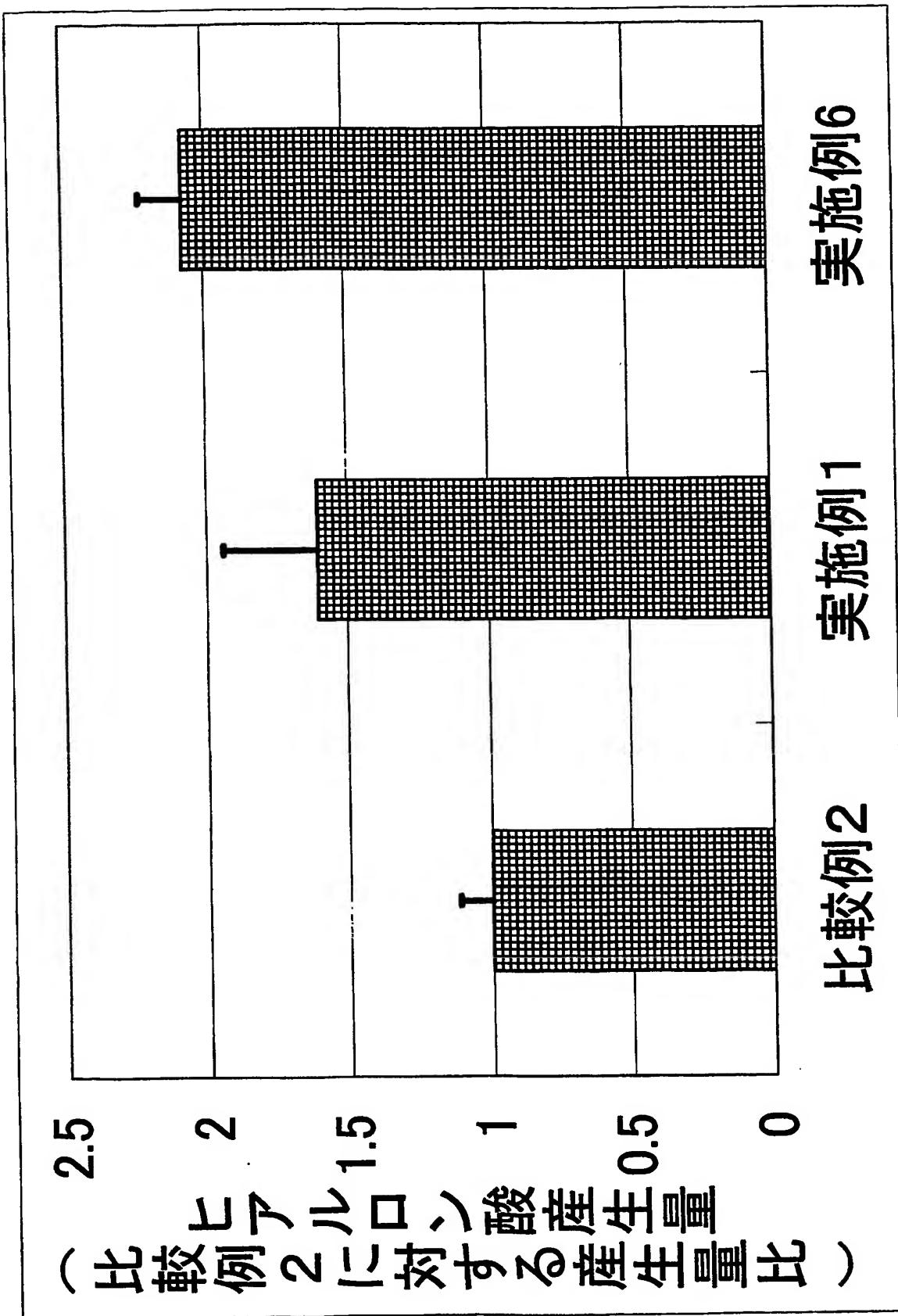
願2003-009365

ページ： 4/

【図3】

THIS PAGE BLANK (USPTO)

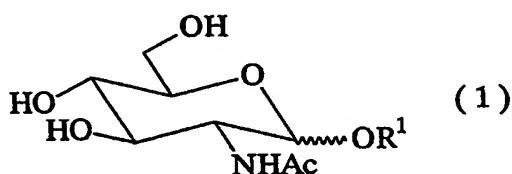
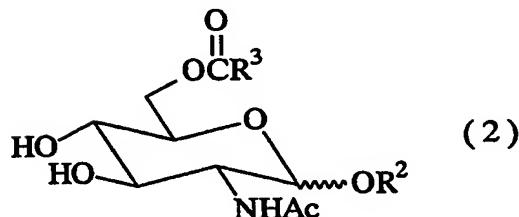
出証特2003-3070471



**【書類名】要約書****【要約】**

**【課題】**皮膚のヒアルロン酸産生を促進させることによって、皮膚のハリと潤いを維持することができ、その結果としてヒト皮膚の老化防止効果が期待される、容易に入手可能なヒアルロン酸産生促進剤及び皮膚外用剤を提供する。

**【解決手段】**下記一般式(1)又は(2)で示されるN-アセチルグルコサミン誘導体及び該誘導体を含有する皮膚外用剤。

**【化1】****【化2】**

(但し、R<sup>1</sup>は炭素数2～16のアルキル基であり、R<sup>2</sup>はHまたは炭素数2～16のアルキル基であり、R<sup>3</sup>は炭素数1～15のアルキル基である。また、どちらも1位の立体構造は、 $\alpha$ あるいは $\beta$ のどちらか一方であるか混合物である。)

**【選択図】図1**

## 認定・付加情報

特許出願の番号 特願2003-009365  
受付番号 50300068827  
書類名 特許願  
担当官 森吉 美智枝 7577  
作成日 平成15年 1月22日

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

【提出日】 平成15年 1月17日

次頁無

特願2003-009365

出願人履歴情報

識別番号 [000000952]

1. 変更年月日 1990年 8月24日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 東京都墨田区墨田5丁目17番4号  
氏 名 鐘紡株式会社

2. 変更年月日 2001年 1月 4日  
[変更理由] 名称変更  
住 所 東京都墨田区墨田五丁目17番4号  
氏 名 カネボウ株式会社

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**